



**دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین**  
**دانشکده بهداشت**

پایان نامه جهت اخذ کارشناسی ارشد  
رشته بهداشت و ایمنی مواد غذایی

**عنوان**

طراحی کیت Taq Man Real Time PCR به منظور تعیین سریع بار میکروبی شیرهای پاستوریزه

**استاد راهنما**

دکتر پیمان قجر بیگی

**استاد مشاور**

دکتر رضی اله جعفری جوزانی

دکتر رزاق محمودی

**نگارش**

آیدا فرهودی

**بهار ۹۴**

## چکیده

شیر یکی از ارزشمندترین منابع غذایی است که دارای ترکیبات غذایی ارزشمندی است که نقش مهمی در سلامت انسان‌ها ایفا می‌کند. این ماده حیاتی در شرایط مساعد محیطی، به دلیل pH و ترکیباتی نظیر پروتئین و چربی می‌تواند محل مناسبی برای رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا باشد و به آسانی فاسد شود. در صورت مصرف شیر با عدم فرآوری مناسب و کافی، می‌تواند سبب بروز بیماری در افراد شود. لذا ارزیابی کیفیت بهداشتی شیر به منظور اطمینان از بهداشت و ایمنی شیر همواره حائز اهمیت است.

برای شناسایی و تشخیص میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. روش‌های مرسوم شمارش میکروبی استفاده از محیط‌های کشت پلیت کانت آگار بوده و بایستی میکروب تحت شرایط *in vitro* کشت داده شود که بسیار زمان‌بر است و ممکن است ۷۲ ساعت طول بکشد و اهمیت این موضوع زمانی است که نیاز به شناسایی سریع و دقیق است و ممکن است چندین باکتری مجاور، منجر به یک کولونی شود. در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های مولکولی برای شمارش سریع و ارزان و دقیق باکتری‌ها افزایش یافته است. یکی از این روش‌ها تکنیک Real Time PCR است. در این مطالعه با طراحی یک جفت پرایمر و یک پروب متصل به FAM و TAMRA برای نواحی ژن 16S rRNA اقدام به راه‌اندازی یک TaqMan Real Time PCR کرده و پس از اپتیمایز کردن واکنش، برای تعیین بار میکروبی نمونه‌های شیر پاستوریزه استفاده شد و در نهایت همبستگی این نتایج با نتایج حاصل از نمونه‌های متناظر در روش PCA بر اساس منحنی Bland-Altman plot بررسی شد.

بر اساس نتایج حاصله، کم‌ترین میزان شمارش بار میکروبی روش کشت صفر (فاقد آلودگی) و بیشترین میزان  $10000 \text{ cfu/ml}$  بود. و در روش Real Time PCR کمترین و بیشترین میزان به ترتیب ۵۵ و ۷۰۷۱ شمارش شد. نتایج نشان داد که روش‌های مولکولی Real Time PCR روشی مناسب جهت تشخیص و شمارش سریع بار میکروبی شیر پاستوریزه بوده و می‌توان از آن به عنوان جایگزین مناسب برای روش‌های مرسوم و فعلی در تشخیص سریع آلودگی‌ها استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** شیر پاستوریزه، بار میکروبی، Real Time PCR.